OMAGGIO

R. ISTITUTO SUPERIORE AGRARIO DI PISA

LABORATORI DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI BATTERIOLOGIA AGRARIA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

97

O. VERONA

COLTURE SPONTANEE DI CELLULOSITICI AEROBI "CYTOPHAGA WINOGRADSKII„ n. sp.

Estratto dai *Rendiconti della R. Accademia Nazionale dei Lincei*
Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.
Vol. XIX. serie 6ª, 1° sem., fasc. 10. – Roma, maggio 1934-XII

1934 - XII

RENDICONTI DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
Classe di Scienze fisiche, matematiche e naturali.
Estratto dal vol. XIX, serie 6ª, 1º sem., fasc. 10. – Roma, maggio 1934–XII

Colture spontanee di cellulositici aerobi "Cytophaga Winogradskii" n. sp.

NOTA

DI

O. VERONA

ROMA
DOTT. GIOVANNI BARDI
TIPOGRAFO DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI
1934–XII

Botanica (Batteriologia Agraria). — *Colture spontanee di cellulositici aerobi: « Cytophaga Winogradskii », n. sp.*[1]. Nota di O. Verona, presentata[2] dal Socio R. Pirotta.

Dopo gli studi di Winogradsky[3] non molti si sono occupati della degradazione aerobica della cellulosa[4] o per lo meno, anche nell'indagine sistematica del terreno, tutti – noi compresi – si sono limitati alla conferma delle specie segnalate o descritte dal Winogradsky stesso. Nessuno si è proposto di vedere se, accanto alle specie note, altre ne esistessero, come del resto lo lasciavano supporre le prime ricerche in materia.

Con tale proposito, facendo uso della ormai nota tecnica delle piastre al silico-gele alla carta da filtro[5] abbiamo voluto eseguire l'eventuale sviluppo spontaneo dei germi, in esse, non sterilizzando la carta e lasciandole aperte uno o due giorni in una stanza di Laboratorio a 15-16° C. di temperatura. Indi, coperte, furono messe in termostato a 24° C.

(1) Lavoro eseguito nel Laboratorio di Batteriologia del R. Istituto Superiore Agrario di Pisa (Direttore Prof. R. Perotti).

(2) Nella seduta del 6 maggio 1934.

(3) S. Winogradsky, *Études sur la microbiologie du sol – Sur la degradation de la cellulose dans le sol.*, « Ann. de l'Institut Pasteur », to. XLIII, p. 549, 1929.

(4) R. Bokor, *Mycococcus cytophagus n. sp. (Spirochaeta cytophaga Hutchinson und Clayton 1919). Untersuchungen über aerobe, bakterielle Cellulosezersetzung mit besonderer Berücksichtigung des Waldbodens*, « Arch. f. Mikrobiol. », vol. I, p. 1, 1930; A. Kalnirs, *Aerobic soil bacteria that decompose cellulose*, « Acta Universalitatis Latviensis », vol. II, p. 221, 1930; H. Krzemieniewska, *Le cycle évolutif de Spirochaeta cytophaga Hutchinson et Clayton*, « Acta Societatis Botanicorum Poloniae », vol. VII, p. 507, 1930-31; P. E. Simola, *Ueber den Abbau der Cellulose durch Mikroorganismen. I. Zur Morphologie und Physiologie der aeroben sporenbilden Cellulose-Bakterien. II. Zur Chemie der Cellulosezersetzung durch die aeroben sporenbildenden Cellulosebakterien*, « Ann. Acad. Scient. Fennicae », ser. A, XXXIV, 1931; H. Krzemieniewska, *Contribution à l'étude du genre Cytophaga (Winogradsky)*, « Arch. f. Mikrobiol. », vol. IV, p. 394, 1933.

(5) In queste prove facemmo uso della comune carta da filtro.

Furono sufficienti 24-48 ore di coltura perchè la carta da filtro apparisse invasa da un più o meno abbondante sviluppo di colonie di non difficile identificazione.

In alcune piastre fu possibile di rinvenire colonie riferibili a *Cellvibrio ochracea*; in altre, e frequentemente, di *Cytophaga rubra*: assieme a questa si sviluppò anche una forma a bastoncino forse identica a quella rinvenuta da W. in vegetazioni della stessa specie. Non mancarono anche colonie di *Cellfalcicula viridis* per la quale, a parte il colore caratteristico, l'assenza di mucosità e di disgregazione delle fibre unita alla purezza dei preparati fece escludere la unione di essa con altre forme sistematicamente vicine. Inoltre, in una sola piastra, si sviluppò una colonia circolare, di circa 4 mm. di diametro, non mucosa, non brillante, gialla, non diafana. All'esame microscopico essa apparì costituita da una forma relativamente pura di cocchi isolati, abbinati o a catenella, come quelli in associazione con *Cytophaga* rinvenuti e figurati dal W. nel fotogramma 7 della Tav. VII della sua Memoria. Il confronto con la nostra fotomicrografia, sebbene ad ingrandimento più piccolo (I, della Tav.), non lascia dubbi sull'identità. Tuttavia, la mancanza, insieme ai cocchi, di forme di *Cytophaga*, non ci permise di stabilire se trattavasi di *C. Hutchinsonii* o di una pura coltura di cocchi.

Ma, più che su queste forme non presenti, del resto, su tutte le piastre, la nostra attenzione cadde su di una vegetazione, assai frequente, che l'esame microscopico rivelò essere dovuta ad una specie di *Cytophaga* non ancora, per quanto si sappia descritta. Le attribuiamo il nome, in onore di Winogradsky, di *Cytophaga Winogradskii* n. sp. e di essa, nella presente Nota si riferisce [1].

Cytophaga Winogradskii, n. sp.

Lo sviluppo di questa forma nelle piastre al silico-gele, dopo appena due giorni di coltura, si manifesta sotto forma di colonie arrotondate, rilevate, mucose, brillanti, non sempre invadenti, jaline, mentre la carta da filtro, vista per trasparenza, diviene dopo breve tempo diafana.

L'esame microscopico accertò trattarsi di sottili filamenti non molto ristretti alle estremità, di μ 0.3–0.5 di spessore e di μ 6.6–8.3 di lunghezza. Generalmente appaiono flessuosi, però non mancano rare forme spiralate o a V ed a U. Come nelle altre specie note si hanno verso il centro del filamento granulazioni di sostanza cromatica.

Si colorano discretamente con violetto di genziana, poco bene con il metodo di Gram; bene invece con eritrosina fenica rinforzata con violetto di genziana in soluzione acquosa diluita.

(1) Dobbiamo segnalare come nelle nostre colture spontanee si sia avuto costante e talvolta notevole sviluppo di Protozoi per la identificazione dei quali abbiamo interessato la cortesia dell'Istituto di Zoologia della R. Università. Sul fatto, che assume una certa importanza, sarà a parte riferito.

Nei preparati si notano individui sparsi, ma, più che altro, essi appaiono ammassati e fuoriuscenti dalle fibre della carta ove si rinvengono numerosissimi.

Non è stato notato alcun movimento apparente, nè ci è stato possibile di mettere in evidenza organi di locomozione.

L'esame di preparati di colture giovanissime accerta la purezza *quasi* esclusiva della forma. Tuttavia si rinvengono, sia pur rare, forme coccoidi assai caratteristiche che con il tempo, mentre cioè la colonia si rende diafana, si fanno prevalenti. Tale forma coccoide da noi rinvenuta sembra piuttosto vicina ma non identica alla combinazione presentata da W. in fig. 6 di Tav. VII della sua Memoria; nettamente si differenzia però dalla combinazione della fig. 7, stessa Tav., identica questa a quella figurata anche da noi (fig. 1) e che probabilmente è la più frequente; e ancora più si discosta, infine, da quella della fig. 2.

Con l'invecchiamento della coltura questa forma assume, come si è detto, la prevalenza mentre scompaiono totalmente, per processi autolitici, le forme flessuose.

L'aspetto di questi cocchi (fig. 4 della Tav.) è piuttosto tipico; i loro caratteri morfologici richiamano alla mente in qualche momento lo pneumococco di Fraenkel. Misurano μ 0.8-1 di diametro; si presentano di norma abbinati, raramente isolati o in leggeri ammassi o in catena senza, peraltro, assumere in tal caso un decisivo comportamento streptococcico. Talvolta ci sono apparsi rivestiti da una leggera capsula, ma i tentativi fatti per metterla in evidenza non ci permettono di asserirlo con sicurezza. Appaiono immobili. Si colorano bene con eritrosina fenica ed anche con la soluzione anilinica di violetto di genziana: resistono alla decolorazione secondo Gram.

È noto come la presenza di tali forme coccoidi sia stata diversamente interpretata. Noi non opiniamo, come Hutchinson e Clayton, che si tratti di una forma di riposo e di riproduzione delle forme flessuose; come non condividiamo le idee, al riguardo, di Bokor e di Krzemieniewska molto chiaramente discusse da Winogradsky [1]. A noi sembra più naturale - ed alcuni fatti, del resto lo autorizzano – che si debbano interpretare le forme rotonde come commensali delle forme cellulositiche alle quali subentrano, nello sviluppo, tosto che queste, per processi autolitici, scompaiono.

Del resto, alle forme di *Cytophaga*, non sempre seguono le forme coccoidi. Ne è esempio, come accennò W. e come noi stessi abbiamo confermato, *Cytophaga rubra* alla quale si associa una forma a bastoncino. Avvertiamo incidentalmente che lo studio sistematico e fisiologico di queste specie ritenute commensali dai vari gruppi di cellulositici si offre interes-

(1) S. Winogradsky, *Sur la décomposition aérobie de la cellulose par les bactéries. Travaux recents.* « Bull. Inst. Pasteur », vol. XXX, p. 369, 1932.

sante, onde stabilire l'ufficio che possono avere nel generale processo degradativo della cellulosa (1).

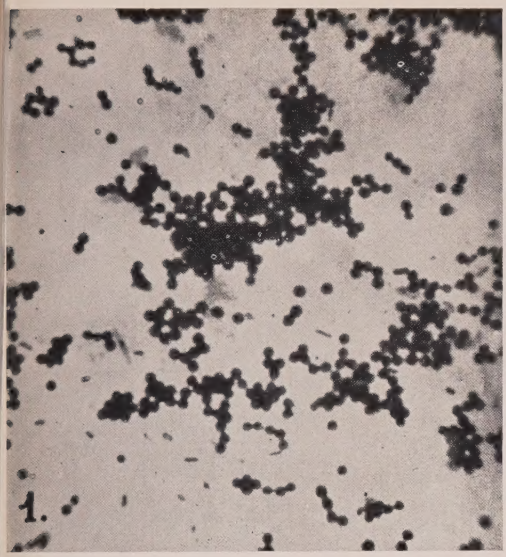
Riassumendo, mentre è stata accertata la presenza nello sviluppo spontaneo sulla carta da filtro di cellulositici aerobi e di Protozoi, è stata descritta una nuova specie di *Cytophaga* - chiamata *C. Winogradskii* – formante una vegetazione jalina e non identificabile con quelle descritte da Winogradsky: *C. Hutchinsonii, aurantiaca, rubra, tenuissima,* che dànno su carta da filtro vegetazioni sotto forma di tacche di colore, rispettivamente, giallo, arancio, rosa–mattone, verde.

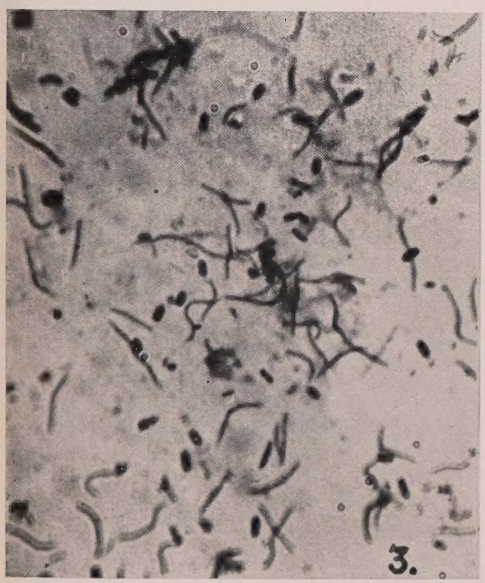
La sua azione fibrolitica è stata accertata; ma di essa, in dettaglio, sarà riferito in altra Nota.

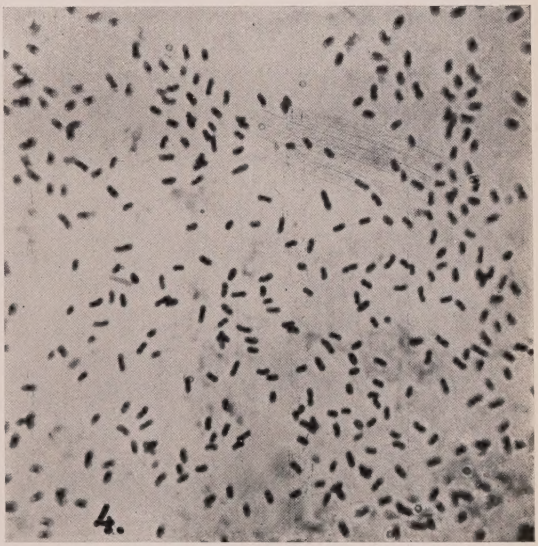
(1) Mentre la presente Nota era in composizione è apparso un lavoro di C. Stapp e H. Bortels (*Mikrobiologische Untersuchungen über die Zersetzung von Waldstren*, « Centr. f. Bakt. », II Abt., v. 90, p. 28, 1934) in cui si descrivono nuove specie di *Cellvibrio* e di *Cytophaga*. Di queste ultime nessuna è identificabile con *C. Winogradskii*.

Stapp e Bortels, nel citato lavoro, tornano a discutere sull'interpretazione da darsi alle forme rotonde presenti nelle culture di *Cytophaga*. Essi ammettono che si tratti di microcisti pur convenendo di ritenere che non tutte le forme di *Cytophaga* le presentino; alcune specie ne sarebbero prive, accompagnate invece, da forme commensali. Di qui una distinzione nel genere, tra specie formanti microcisti e specie non formanti microcisti. Nel primo caso, particolarmente, queste forme di cellulositici dovrebbero rientrare o avvicinarsi ai Mixomiceti.

Comunque, il fatto, ci sembra meritevole di ulteriore studio.







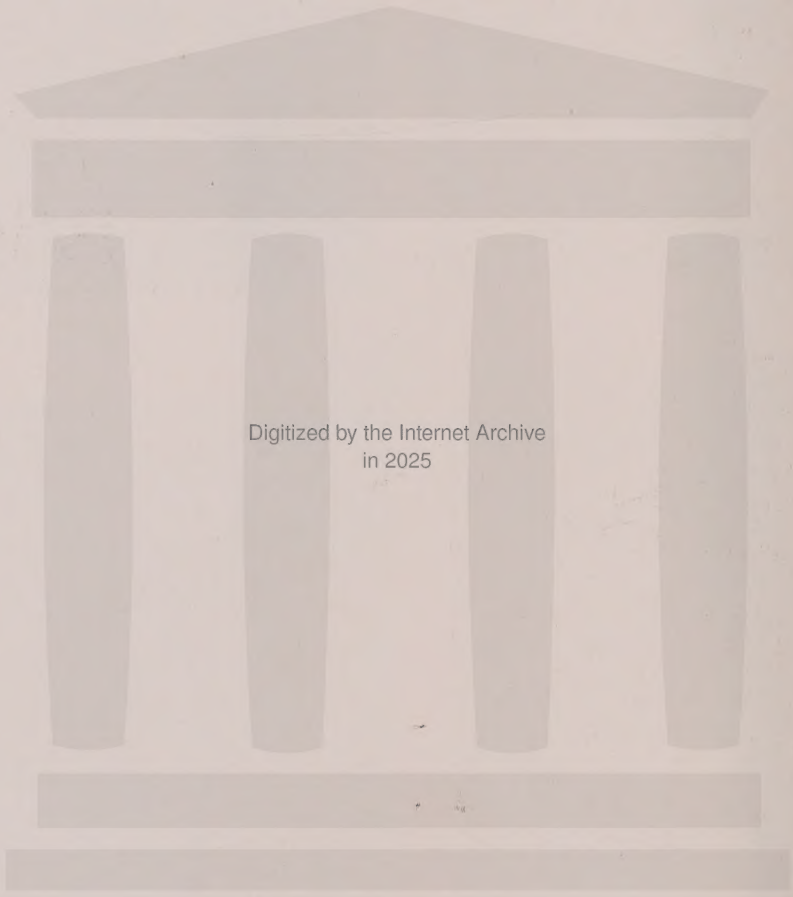
SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA
(ingr. di 1600 circa)

Fig. 1. - Cocchi a vegetazione strepto-stafilococcica provenienti da una tacca di colore giallo avente molti giorni di coltura; in origine, probabilmente, soci a *Cytophaga* (confrontasi con fig. 7, tav. VII, della Memoria di W.).

Fig. 2. - Cytophaga Winogradskii n. sp. — Le forme di *Cytophaga* sono prevalentemente ammassate entro o nei pressi della fibra in disgregazione. Vi si rinvengono anche forme coccoidi.

Fig. 3. - Cytophaga Winogradskii n. sp. — Le forme coccoidi incominciano a prevalere mentre si iniziano i processi autolitici delle forme flessuose.

Fig. 4. - Cocchi a vegetazione diplococcica sviluppati in seguito alla autolisi di *Cytophaga*.


Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/universita-di-pisa-osservatorio-regionale-di-fitopatologia_1934_97